Über die biologische Differenzierung von Milch und Milcheiweißkörpern.

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der

veterinär-medizinischen Doktorwürde

der

vereinigten medizinischen Fakultät

der

Grofsherzoglich Hessischen Ludwigs-Universität zu Giefsen

vorgelegt von

Fritz Kollmeyer,

approb. Tierarzt aus Erpen-Timmern bei Dissen.

MÜNCHEN.

Druck von R. Oldenbourg.

1910.

Über die biologische Differenzierung
von Milch und Milcheiweißkörpern.

Über die biologische Differenzierung von Milch und Milcheiweißkörpern.

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der

veterinär-medizinischen Doktorwürde

der

vereinigten medizinischen Fakultät

der

Grofsherzoglich Hessischen Ludwigs-Universität zu Gieſsen

vorgelegt von

Fritz Kollmeyer,

approb. Tierarzt aus Erpen-Timmern bei Dissen.

MÜNCHEN.

Druck von R. Oldenbourg.

1910.

Gedruckt mit Genehmigung der vereinigten medizinischen Fakultät zu Giefsen.

Referent: Professor Dr. Kossel.

Die Immunitätslehre ging aus von der Erforschung von Stoffen, die im Blute durch die Einwirkung von Bakterien, Zellen oder Zellprodukten entstanden sind. Demgemäfs bestand auch die Auffassung, dafs alle diese Immunsubstanzen Schutzkörper sind, die den Organismus gegen Bakterien und Bakterienprodukte und überhaupt gegen fremde Zellelemente oder deren Stoffwechselprodukte schützen sollen. Erst allmählich brach sich die Erkenntnis Bahn, dafs alle tierischen Eiweifskörper imstande sind, Antistoffe vom Charakter der Immunsubstanzen zu produzieren. Im Jahre 1897 fand Rudolf Kraus, dafs ein gegen Bakterien gerichtetes Immunserum auch im Filtrat der betreffenden Bakterienkulturen spezifische Niederschläge erzeugt. Die Niederschläge traten nur dann in Erscheinung, wenn das Antiserum mit dem Filtrate der zugehörigen Bakterienkultur gemischt wurde. Diese Bakterienpräzipitine wurden zuerst von Wladimiroff zu diagnostischen Untersuchungen verwandt. Er benutzte sie zum Nachweis der Rotzkrankheit beim Pferde, indem das Blutserum eines solchen Pferdes in dem Filtrate einer Rotzkultur einen Niederschlag erzeugt. Späterhin wurde auch bei anderen Krankheiten die Bakterienpräzipitation in der spezifischen Krankheitsdiagnostik angewandt.

Im Jahre 1890 fand Tchistovitsch, dafs das Serum von Kaninchen, die mit Pferde- oder Aalserum vorbehandelt waren, imstande ist, in den genannten Seren eine Eiweifsausfällung hervorzurufen. Zu den gleichen Resultaten kam auch Bordet. Die Befunde von Tchistovitsch und Bordet wurden mit den früher erwähnten von Kraus auf dieselbe Stufe gestellt, und es zeigte sich im Verlaufe weiterer Forschungen, dafs man imstande ist, im allgemeinen mit Hülfe tierischer und pflanzlicher Eiweifskörper Antikörper hervorzurufen, die die zu ihrer Erzeugung benutzten Eiweifskörper in spezifischer Weise ausfällen. Die wichtigste Eigenschaft dieser Präzipitinsera ist ihre Spezifität, d. h. ein Präzipitinserum, das von einem Kaninchen gewonnen ist durch Behandlung desselben mit Pferdeserum, ist nur imstande, die Eiweifskörper des Pferdeserums auszufällen. Allerdings besteht keine absolute Spezifität in diesem Sinne. Denn aufser dem Pferde reagieren mit dem genannten Pferdeantiserum auch noch dem Pferde verwandte Tiere, z. B. der Esel. Eine solche relativ unspezifische Reaktion zwischen einem Pferdeantiserum und Eselserum nennt man Verwandtschaftsreaktion. Dieselbe unterscheidet sich nur quantitativ von der Reaktion des homologen Serums (des Pferdeserums). Uhlenhuth hat die Präzipitinmethode zum Studium der verwandtschaftlichen Beziehungen unter den Tierarten inauguriert. Später wurde sie auch zur Differenzierung und Feststellung von verwandtschaftlichen Beziehungen zwischen Pflanzenarten herangezogen. Besonders umfangreiche Untersuchungen über die verwandtschaftliche Reaktion der verschiedensten Tierarten hat Nuttall angestellt. Er stellte neben den Begriff der Verwandtschaftsreaktion noch den der Säugetierreaktion, indem er zeigen konnte, dafs mit einem gegen ein bestimmtes Säugetierblut gerichteten Präzipitinserum nicht nur nahe verwandte Tierarten noch reagierten, sondern in allerdings sehr geringem Grade, alle möglichen Säugetiere. Es kommt also in der Präzipitinreaktion nicht nur ein Verwandtschaftsgrad, wie er z. B. zwischen Pferd und Esel besteht, zum Ausdruck, sondern auch die weitere biologische Verwandtschaft, wie sie die gesamte Säugetiergruppe

umfafst. Diese Tatsache brachte eine neue und sichere Begründung für die Deszendenztheorie Lamarcks und seiner Nachfolger. Ihre praktisch wichtigste Anwendung fand die Präzipitation in der forensischen Blutprobe. Der Vorschlag, die Eiweifsdifferenzierungsmöglichkeit, die durch die Präzipitinmethode gegeben war, zum gerichtlichen Blutnachweis zu benutzen, wurde zu gleicher Zeit von Uhlenhuth und ferner von Wassermann und Schütze[1]) gemacht. Wir haben schon eingangs erwähnt, dafs durch die Injektion der tierischen Eiweifskörper welcher Herkunft auch immer sie seien, Präzipitinbildung hervorgerufen wird. So fand auch Bordet, dafs nach der Injektion von Kuhmilch in dem Blutserum von Kaninchen sich Präzipitine bildeten, die die Kuhmilch ausfällten. Diese Versuche wurden von Fish, Ehrlich, Wassermann und Schütze bestätigt. Es stellte sich heraus, dafs auch die Milchpräzipitine spezifisch sind. Aber auch hier war die Spezifität keine absolute, auch hier kann man eine Verwandtschaftsreaktion in demselbem Sinne wie bei der Serumpräzipitation finden. Auch einen praktischen Erfolg hat die Milchpräzipitation geliefert, indem Wassermann und Schütze vorschlugen, sie zur Erkennung der Milchverfälschung zu benutzen. Für diesen Nachweis der Milchverfälschung war es von Wichtigkeit, ob auch gekochte Milch von einem Laktopräzipitinserum ausgefällt wurde, da wir es ja im praktischen Leben sehr häufig mit gekochter Milch zu tun haben. Die Möglichkeit des Nachweises von gekochter Milch wurde zuerst von Fuld geleugnet, später aber allgemein anerkannt (A. Schütze[2]), P. Th. Müller, Uhlenhuth). Von P. Th. Müller[3]) ist späterhin erwiesen worden, dafs zur Milchpräzipitation die Anwesenheit von Kalksalzen notwendig sei. Aus diesem Grunde

1) Wassermann u. Schütze, Über eine neue forensische Methode zur Unterscheidung von Menschen- und Tierblut. Berl. klin. Wochenschr. 1901, Nr. 7.

2) A. Schütze, Über ein biologisches Verfahren zur Differenzierung der Eiweifsstoffe verschiedener Milcharten. Archiv f. Hygiene 1901, Bd 36 und Bd. 38.

3) P. Th. Müller, Vergleichende Studien über die Gerinnung des Kaseins durch Lab und Laktoserum. Münch. med. Wochenschr. Nr. 49 S. 372.

erklärt Müller auch die Tatsache, dafs einige Forscher mit gekochter Milch keine Präzipitation gefunden haben. Durch das Kochen werden die löslichen Kalksalze der Milch verringert und auf diese Weise zwar nicht die Bindung des Präzipitins an das Milchantigen verhindert, aber das sichtbare Phänomen hintangehalten. Sehr interessante Untersuchungen über die Milchantikörper hat Hamburger[1]) angestellt. Hamburger trennte mit Hilfe von Tonfiltern das Albumin von dem Kasein der Kuhmilch. Er injizierte die beiden getrennten Milcheiweifslösungen Kaninchen und gewann auf diese Weise ein albumin- und ein kaseinfällendes Serum. Jedes dieser beiden Sera besafs eigene Spezifität, indem es nur die zugehörige Eiweifslösung präzipitierte. Doch waren diese Versuchsresultate nicht ganz gleichartig. Ein zweites von ihm gewonnenes Albuminantiserum fällte auch Kaseinstoffe. Immerhin schliefst Hamburger aus seinem Versuche, dafs das Kasein und das Albumin der Milch biologisch trennbare Eiweifskörper sind. Merkwürdigerweise gab sowohl das Kaseinantiserum als auch das Albuminantiserum einen Niederschlag in Rinderserum. Von dem gewöhnlichen Laktoserum war es schon vorher bekannt, dafs es eine Reaktion mit dem Blute derselben Tierart gibt, ebenso wie das Blutantiserum eine Fällung mit der homologen Milch gibt. Nach Uhlenhuth und Schütze sind zu diesem letzteren Versuch allerdings sehr hochwertige Blutantisera notwendig.

Theoretisch war es ja von gröfstem Interesse, die Frage zu entscheiden, ob es möglich ist, dafs zwei verschiedene Eiweifskörper desselben Individuums eigene Präzipitine bilden. Nach den Forschungsergebnissen von Obermayer und Pick, Rostoski, Oppenheimer, Michaelis und anderen gelingt es nicht, durch Vorbehandlung mit Globulin- und Albuminsubstanzen des Blutserums eigene Antikörper herzustellen. Ebensowenig gelang es, die chemisch rein dargestellten differenten Eiweifskörper des Hühnereies biologisch zu differenzieren. Uhlen-

1) F. Hamburger, Biologisches über die Eiweifskörper der Kuhmilch und über Säuglingsernährung. Wiener klin. Wochenschr. 1900, Nr. 49.

huth bezieht diese Mifserfolge darauf, dafs unsere chemischen Methoden der Reindarstellung von Eiweifskörpern noch nicht vollkommen sind.

Als Ersatz für die Präzipitinreaktion hat sich neuerdings die Komplementbindungsmethode immer mehr eingebürgert. Dieselbe ist von Moreschi, ferner von Bordet und Gengou inauguriert worden. Sie beruht darauf, dafs Antikörper und Antigen, zusammen im Reagenzglas gemischt, die Eigenschaft haben, Komplement zu binden. Die Bindung des Komplements wird bei dieser Methode dadurch in vitro sichtbar gemacht, dafs das Komplement einem hämolytischen System entzogen wird. Die Anwendung dieser Methode zum Eiweifsnachweis, namentlich für forensische Zwecke, ist auf Neifser und Sachs[1]) zurückzuführen. Durch die Studien, die sich an diese Verwendung der Komplementablenkung knüpfen, ist von Rickmann[2]) und Bauer[3]) gezeigt worden, dafs diese Reaktion feiner und spezifischer als die Präzipitation ist. So wird sie denn auch heute in der gerichtlichen Praxis nicht nur, sondern auch zum Nachweis von Fleischverfälschung neben der Präzipitation verwandt. Der einzige Vorwurf, der von Anhängern der Präzipitinreaktion zum Zwecke des gerichtlichen Blutnachweises (Uhlenhuth) gegen die Komplementbindung erhoben wird, ist erstens ihre Kompliziertheit und weiterhin ihre übergrofse Feinheit, die es z. B. ermöglicht, dafs unter Umständen selbst Spuren von menschlichem Schweifs nachzuweisen sind, wodurch eventuell ein Irrtum beim forensischen Blutnachweise unterlaufen könnte. Für die wissenschaftliche Forschung ist nun die Kompliziertheit einer Methode gewifs kein Hindernis, ihre Feinheit ein aufserordentlicher Vorzug. Ich will hier nicht weiter auf die

1) M. Neifser u. H. Sachs, Untersuchungen über das Verfahren zur forensischen Unterscheidung von Menschen- und Tierblut. Klin. Jahrbuch 1908, Bd. 19.

2) Rickmann, Beitrag zur biologischen Eiweifsdifferenzierung. Arbeiten a. d. Institut f. exp. Therapie zu Frankfurt a. M. 1907, H. 3.

3) J. Bauer, Über die Spezifität der biologischen Eiweifsdifferenzierung. Ebendort.

klinisch-diagnostischen Erfolge eingehen, die diese Methode neuerdings in der Humanmedizin errungen hat. Zum Zwecke der Milchdifferenzierung ist nun diese Methode m. W. bisher nur von Bauer[1]) verwertet worden. Derselbe stellte sie über die Präzipitinreaktion bei der Milchdifferenzierung zum Zwecke des Verfälschungsnachweises. Gerade gegenüber der Milchpräzipitation sei die Komplementbindung vorzuziehen, nicht nur, weil sie die Vorzüge der Feinheit und gröfseren Spezifität besäfse, sondern weil hier der Präzipitation Nachteile zukommen. Fällungen sind in dem Medium der Milch relativ schwer zu beobachten. Hier ist der augenfällige Ausfall einer hämolytischen Reaktion entschieden vorzuziehen. Nun ist von Pfaundler und Moro darauf aufmerksam gemacht worden, dafs die Milch an sich hämolysehemmende Eigenschaften besitzt. Man könnte daher daran denken, dafs diese Eigenschaft einer spezifischen Komplementbindung im Wege stände. Bauer hat aber gezeigt, dafs dem nicht so ist. Erstlich sind diese Hemmungen nur sehr gering und zweitens lassen sie sich durch die Versuchsanordnung umgehen. Auch die Frage der Differenzierung der Milch und der Serumeiweifskörper einerseits und der Milcheiweifskörper unter sich, ist von demselben Autor schon angegangen worden. Auf Anregung und Unterstützung von Dr. Bauer habe ich es unternommen, alle die Fragen der biologischen Milchdifferenzierung, die wir soeben bei der Behandlung der Milchpräzipitation kurz skizziert haben, mit Hilfe der Komplementbindungsmethode auf breiter Basis in Angriff zu nehmen. Ich stellte mir daher folgende Fragen:

1. In welcher Weise kommt die Verwandtschaftsreaktion bei der biologischen Milchdifferenzierung mittels der Komplementbindung zum Ausdruck?

2. Welcher Eiweifskörper der Milch ist bei der Komplementbindung mittels eines Laktoserums beteiligt?

1) J. Bauer, Über biologische Milchdifferenzierung. Münch. med. Wochenschr. 1908, Nr. 15.

2) J. Bauer, Zur Biologie der Milch. Verhandl. d. deutsch. Ges. f. Kinderheilkunde 1909, s. a. Berl. klin. Wochenschr. 1910.

3. Läfst sich die Milch von dem Blute desselben Tieres mit Hilfe der Komplementbindung differenzieren oder besitzt die Milch Eiweifskörper, die biologisch mit solchen des Blutes identisch sind?

4. Kann man mit Hilfe der chemisch trennbaren Eiweifskörper der Milch spezifische Antisera gegen Milch oder Milcheiweifskörper herstellen?

5. Welche antigene Eigenschaft hat die Milch im Frühstadium ihrer Produktion?

6. Besteht ein Einflufs des Kochens auf das Milchantigen bei der Komplementbindung?

Methodik.

Zu den Differenzierungsversuchen wurde Kuh-, Büffel-, Ziegen-, Esels- und Frauenmilch benutzt. Bei den Versuchen mit Kolostralmilch wurde sowohl Frühmilch vom ersten als auch vom fünften Tagen benutzt, um eventuell Veränderungen während des Frühstadiums zum Ausdruck kommen zu lassen. Zu den Untersuchungen mit gekochter Milch wurde die Milch gewöhnlich im Reagenzglas nur einmal aufgekocht, um den Verhältnissen der Praxis einigermafsen nahe zu kommen. Von Milcheiweifskörpern haben wir im wesentlichen nur zwei untersucht, und zwar auf der einen Seite das Kasein, auf der anderen Seite die sogenannten löslichen Eiweifstoffe (Albumin-Globulin). Die Gewinnung des Kaseins geschah durch Säurefällung. Die löslichen Eiweifsstoffe wurden aus der klaren Molke gewonnen[1]). Nur als Kuhmilchalbumin wurde das von Merck hergestellte Laktalbumin benutzt. Die Antiseren wurden durch intravenöse Injektionen von Kaninchen in Abständen von 4 Tagen erzeugt. Sieben Tage nach der letzten Injektion wurde zuerst probeweise Blut aus einer Ohrvene entnommen und auf seine ausreichenden Antikörpergehalt untersucht. Wenn der Antikörper-

1) Für die Darstellung und Überlassung dieser Eiweifskörper bin ich Herrn Dr. Engel (Düsseldorf) zu besonderem Danke verpflichtet.

gehalt genügte, so wurde das Tier entblutet, das Serum gewonnen und eingefroren aufbewahrt.

Es handelte sich nun zuerst um die Einstellung des hämolytischen Systems; und als System wurde gewählt: Hammelblut und ein vom Kaninchen gewonnenes Hammelblut-Immunserum und schliefslich als Komplementträger frisches Meerschweinchenserum. Als dauernd zu verwendender hämolytischer Ambozeptor wurde die $2-2^1/_2$ fache Menge der minimal löslichen Dosis (0,002 ccm) gebraucht. Das Meerschweinchenserum wurde vor jedem Versuch frisch austitriert und auch von ihm etwa das Duplum der einfach löslichen Menge gewählt.

Von dem Antiserum wurde dann stets die optimale Versuchsmenge bestimmt. Es wurde zu diesem Zwecke ein Versuch mit absteigenden Mengen des Antiserums und etwa $^1/_{100}-^1/_{1000}$ des Antigens wenn es sich um Milch handelte, zugesetzt. Handelte es sich um einen Milcheiweifskörper, so wurde die etwa dieser Milchverdünnung entsprechende Menge als Indikator genommen. Als optimale Antiserummenge wurde dann das Doppelte derjenigen Dosis des Antiserums angesehen, die nachgerade eine vollständige Komplementablenkung ergab. Zu den Differenzierungsversuchen wurde dann stets diese optimale Antiserummenge benutzt. Das Weitere ist aus den Tabellen ersichtlich.

Versuchsreihe I.

(Siehe Tab. 1, 2 u. 3 auf S. 11 u. 12.)

Wir sehen, dafs auch mit der Komplementbindungsmethode die Verwandschaftsreaktion durchaus zum Ausdruck kommt. Das Kuhmilchantiserum gibt eine gute Komplementablenkung mit Kuhmilch, eine etwa schwächere mit der verwandten Büffel- und Ziegenmilch, eine geringere mit Eselsmilch und die Andeutung einer Reaktion mit Frauenmilch. Ganz entsprechend verhält sich auch Ziegen- und Esellaktoserum (s. Tab. 2 u. 3).

Tabelle 1.

Mengen der Milch ccm	Eingetretene Hämolyse bei Einwirkung von 0,025 ccm Kuhmilch-Antiserum auf die Milch von									
	Kuh	ohne Antiserum	Büffel	ohne Antiserum	Ziege	ohne Antiserum	Esel	ohne Antiserum	Frau	ohne Antiserum
0,1	0	kompl.	0	kompl.	0	kompl.	0	kompl.	stark	kompl.
0,05	0	»	0	»	0	»	mäfsig	»	»	»
0,01	0	»	0	»	0	»	stark	»	»	»
0,005	0	—	mäfsig	—	Spur	—	kompl.	—	fast k.	—
0,001	Spur	—	stark	—	»	—	»	—	kompl.	—
0,0005	»	—	fast k.	—	wenig	—	»	—	»	—
0	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	»	kompl.	»	kompl.

Tabelle 2.

Mengen der Milch ccm	Eingetretene Hämolyse bei Einwirkung von 0,025 ccm Ziegenmilch-Antiserum auf die Milch von									
	Kuh	ohne Antiserum	Büffel	ohne Antiserum	Ziege	ohne Antiserum	Esel	ohne Antiserum	Frau	ohne Antiserum
0,1	0	Spur	0	stark	0	Spur	0	kompl.	kompl.	kompl.
0,05	0	stark	0	»	0	stark	0	»	»	»
0,01	0	kompl.	0	kompl.	0	kompl.	mäfsig	»	»	»
0,005	0	—	Spur	—	0	—	kompl.	—	»	—
0,001	Spur	—	»	—	0	—	»	—	»	—
0,0005	»	—	mäfsig	—	0	—	»	—	»	—
0	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	»	kompl.	»	kompl.

Tabelle 3.

Mengen der Milch ccm	Eingetretene Hämolyse bei Einwirkung von 0,05 ccm Eselsmilch-Antiserum auf die Milch von							
	Kuh		Ziege		Esel		Frau	
		ohne Antiser		ohne Antiser.		ohne Antiser.		ohne Antiser.
0,1	0	stark	0	kompl.	0	kompl.	kompl.	kompl.
0,05	0	kompl.	0	:	—	—	»	»
0,01	wenig	»	kompl.	»	0	kompl.	»	»
0,005	stark	—	»	—	—	—	»	—
0,001	kompl.	—	»	—	0	kompl.	»	—
0,0005	»	—	»	—	—	—	»	—
0,0001	—	—		—	stark	—	—	—
0,00001	—	—	—	—	kompl.	—	—	—
0,000001	—	—	—	—	»	—	—	—
0	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	»	kompl.	kompl.	kompl.

Versuchsreihe II.

(Tab. 4, 5 u. 6.)

Aus Tabelle 4 geht hervor, dafs das nicht sehr hochwertige Kuhlaktoserum vorzüglich mit dem Kuhmilchkasein eine Komplementablenkung gibt, dafs aber auch eine gewisse schwache Bindung mit dem Albuminstoffe eintritt. In bezug auf die Lakto-

Tabelle 4.

Mengen d. Eiweifskörperlos. Stammlösung 0,05 g Eiw. in 3 ccm 1‰ NaOH gelöst ccm	Eingetretene Hämolyse bei Einwirkung von 0,025 ccm Kuhmilch Antiserum auf folgende Milcheiweifskörper							
	Kuhmilchkasein		Eselsmilchkasein		Frauenmilchkasein		Kuhmilchalbumin	
		ohne Antiser.		ohne Antiser.		ohne Antiser.		ohne Antiser.
0,1	0	kompl.	mäfs. st.	kompl.	stark	kompl.	Spur	kompl.
0,05	0	»	stark	»	fast k.	»	»	»
0,01	0	»	kompl.	»	kompl.		»	»
0,005	Spur	—	»	—	»	—	wenig	—
0,001	Sp. wenig	—	»	—	»	—	»	—
0,0005	wenig	—	»	—	»	—	mäfsig	—
0	kompl.	kompl.	»	kompl.	»	kompl.	kompl.	kompl.

Mengen der Eiweifskörperlösung. Stammlösung 0,05 g. Eiweifs in 3 ccm 1% NaOH gelöst ccm	Eingetretene Hämolyse bei Einwirkung von 0,025 ccm Ziegenmilch-Antiserum auf folgende Milcheiweifskörper									
	Kuhmilchkasein		Ziegenmilchkasein		Eselsmilchkasein		Frauenmilchkasein		Kuhmilchalbumin	
		ohne Antiserum		ohne Antiserum		ohne Antiserum		ohne Antiserum		ohne Antiserum
0,1	mäfsig	stark	stark	stark	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.
0,05	fast 0	»	fast 0	»	»	»	»	»	»	»
0,025	Spur	kompl.	0	—	»	»	»	»	»	»
0,01	»	—	0	kompl.	»	—	»	—	»	—
0,005	wenig	—	Spur	»	»	—	»	—	»	—
0,001	—	—	wenig	»	—	—	»	—	»	—
0	kompl.	kompl.	kompl.	»	kompl.	kompl.	»	kompl.	»	kompl.

Tabelle 6.

Mengen der Eiweifskörperlösung. Stammlösung 0,05 g. Eiweifs in 3 ccm 1% NaOH gelöst ccm	Hämolyse bei Einwirkung von 0,025 ccm Eselsmilch-Antiserum auf folgende Milcheiweifskörper											
	Kuhmilchkasein		Eselsmilchkasein		Frauenmilchkasein		Kuhmilchalbumin		Eselsmilchalbumin		Frauenmilchalbum.	
		ohne Antiser.		ohne Antiser.		ohne Antiser.		ohne Antiser.		ohne Antiser.		ohne Antiser.
0,1	fast k	fast k.	0	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl	kompl.
0,05	kompl.	kompl.	—	—	»	»	»	»	—	—	»	»
0,01	»	»	0	kompl.	»	»	»	»	kompl.	kompl.	»	»
0,005	»	»	—	—	»	—	»	—	—	—	»	—
0,001	»	»	0	kompl.	»	—	»	—	kompl.	kompl.	»	—
0,0005	»	»	—	—	»	—	»	—	—	—	»	—
0,0001	—	—	0	—	—	—	—	—	kompl.	—	—	—
0,00005	—	—	0	—	—	—	—	—	»	—	—	—
0,00001	—	—	Spur	—	—	—	—	—	»	—	—	—
0	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	»	kompl.	kompl.	kompl.

präzipitation wurde zuerst von Fuld[1]) und P. Th. Müller behauptet, dafs nur das Kasein ausgefällt würde, nach Bordet, Hamburger u. a. auch die anderen Eiweifskörper.

In Tabelle 5 sehen wir besonders ausgedrückt, dafs die Verwandtschaftsreaktion sich auch auf einen einzelnen Eiweifskörper (Kasein) erstreckt. In derselben Tabelle ersehen wir ein Phänomen ausgedrückt, das auch bei der Präzipitation zur Beobachtung kam, wir sehen nämlich, dafs eine geringere Menge des Antigens eine stärkere Komplementbindung geben kann als eine gröfsere Menge. Von der Präzipitation ist uns nämlich durch Michaelis bekannt, dafs das Präzipitat in einer gröfseren Menge der präzipitablen Substanz wieder löslich ist.

Veruchsreihe III.

(Tab. 7a, 7b, 7c, 7d, 7e, 7f; 8a, 8b, 8c, 8d.)

In den Tabellen 7 finden wird ausgedrückt, dafs sich mit Hilfe eines Laktoserums bei der Komplementbindung das Blutserum durchaus von der Milch differenzieren läfst, wie das auch früher schon von Bauer behandelt worden ist, der in diesem Sinne von Organeigenheit des Milcheiweifses sprach. Wir

Mengen des Serums	Tabelle 7 a. Eingetr. Hämolyse bei Einwirkg. v. 0 025 ccm Kuhmilch-Antiser auf das Blutserum von		Tabelle 7 b. Eingetr. Hämolyse bei Einwirkg. von 0,025 ccm Ziegenmilch-Antiser auf d. Blutser. v.		Tabelle 7 c. Eingetretene Hämolyse bei Einwirkung von 0,025 ccm Eselsmilch-Antiserum auf das Blutserum von			
	Rind		Ziege		Pferd		Mensch	
ccm		ohne Antiser.		ohne Antiser.		ohne Antiser		ohne Antiser
0,1	wenig	mäfsig	stark	stark	mäfsig	mäfsig	kompl.	kompl.
0,05	mäfsig	»	komplett	komplett	fast k.	fast k.	»	»
0,025	—	—	»	»	—	—	—	—
0,01	komplett	komplett	»		kompl	kompl.	kompl.	kompl.
0 005	»	—	»	—	»	—	»	—
0,001	»	—	—	—	»	—	»	—
0,0005	»	—	—	—	»	—	»	—
0	-	komplett	komplett	komplett	»	kompl.	»	kompl

1) Fuld, Über das Bordetsche Laktoserum. Hofmeisters Beiträge 1902, Bd 2.

Mengen des Serums ccm	Eingetretene Hämolyse bei Einwirkung von 0,02 ccm Antiserum, gewonnen durch Injektionen von Kuh-Kolostralmilch des 1. Tages auf das Blutserum von				Hämolyse bei Einwirkung von 0,02 ccm Antiserum, gewonnen durch Injektionen von Kuh-Kolostralmilch des 5. Tages auf das Blutserum von				Hämolyse bei Einwirkung von 0,02 ccm Antiserum, gewonnen durch Injektionen von gekochter (einmal aufgekocht) Kuhmilch auf das Blutserum von			
	Rind		Ziege		Rind		Ziege		Rind		Ziege	
		ohne Antiser		ohne Antiser.		ohne Antiser		ohne Antiser.		ohne Antiser.		ohne Antiser.
0,1	fast 0	fast 0	kompl.	kompl.	mäfsig	stark	stark	kompl.	stark	kompl.	stark	kompl.
0,05	» 0	stark	»	»	»	kompl.	kompl.	»	wenig	»	»	»
0,01	stark	kompl.	»	»	»	»	»	»	mäfsig	»	kompl.	»
0,005	kompl.	—	»	»	fast 0	—	»	»	stark	»	»	—
0,001	»	—	»	»	» 0	—	»	—	»	—	»	—
0,0005	»	—	»	»	» 0	—	»	—	»	—	»	—
0	»	kompl.	»	»	kompl.	kompl.	»	kompl.	fast k.	kompl.	»	kompl.

Tabelle 8a. **Tabelle 8b.** **Tabelle 8c.**

Mengen des Serums ccm	Eingetretene Hämolyse bei Einwirkung von 0,025 ccm Kuhmilchkasein-Antiserum auf das Blutserum von Rind		Eingetretene Hämolyse bei Einwirkung von 0,025 ccm Kuhmilchalbumin-Antiserum auf das Blutserum von Rind		Mengen des Antiserums ccm	Eingetretene Hämolyse bei Einwirkung v. Kuhmilchalbumin-Antiserum auf 0,01 ccm Blutserum von Rind	
		ohne Antiserum		ohne Antiserum			ohne Blutserum
0,1	mäfsig	mäfsig	—	—	0,1	0	komplett
0,05	»	»	—	—	0,05	0	»
0,01	komplett	komplett	0	komplett	0,025	0	»
0,005	»	»	—	—	0,01	0	»
0,001	»	»	0	komplett	0	komplett	»
0,0005	»	»	—	—			
0,0001	—	—	0	komplett			
0,00001	—	—	0	»			
0	komplett	komplett	komplett	»			

Tabelle 8 d.

Grad der Serumverdünnung auf 2,0 ccm mit physiologischer Kochsalzlosung aufgefüllt	Präzipitation Wirkung von 0,2 ccm Kuhmilchalbumin-Antiserum auf das Blutserum vom Rind
0,1	sofort deutlich nach 3 Min. stark
0,01	sofort deutlich nach 3 Min. stark
0,001	sofort Hauch nach 5 Min. stark deutlich
0,0001	nach 30 Min. schwach deutl.
0,00001	0
0	0

Tabelle 8 e.

Mengen des Serums ccm	Eingetretene Hämolyse bei Einwirkung von 0,05 ccm Ziegenmilchkasein-Antiserum auf das Blutserum von Ziege	
		ohne Antiser.
0,1	stark	stark
0,05	komplett	komplett
0,01	»	»
0,005	»	
0,001	»	
0	»	»

haben hier mit demselben Laktoserum gearbeitet, von dem aus den vorhergehenden Tabellen bekannt ist, dafs es sich mit Milch in $^1/_{1000}$—$^1/_{100000}$ Verdünnungen und mehr bindet, während es mit dem Blutserum derselben Art keine Reaktion hier eingeht. Da uns Eselsserum nicht zur Verfügung stand, haben wir mit dem verwandten Pferdeserum gearbeitet, auch dieses zeigte mit dem Eselsmilchserum keine Ablenkung. Hingegen sehen wir auf Tab. 7 d und 7 e, dafs ein Antiserum gegen Kuhkolostrum wohl häufig eine recht beträchtliche Komplementbindung mit Rinderserum gibt. Es kommt hierin zum Ausdruck, dafs in der Kolostralmilch antigene Stoffe hämatogenen Ursprungs vorhanden sind, die wir in der gewöhnlichen Milch vermissen. Es ist selbstverständlich, dafs Kaseinantisera (Tab. 8 a) mit dem Blute desselben Tieres keine Bindung geben, da ja in dem Blute der Kaseineiweifskörper nicht vorhanden ist. Etwas anderes können wir auf den Tabellen 8, b, c und d beobachten. Wir sehen hier deutlich, dafs ein Antiserum gegen die löslichen Eiweifsstoffe der Milch (hier kurz Albuminantiserum genannt) mit dem Blute derselben Tierart eine deutliche Komplementbindung ergibt. In Tab. 8 d habe ich vergleichsweise noch einmal gezeigt, wie sich die Präzipitation in diesem Falle verhält. Es lehren uns diese Resultate, dafs gewisse lösliche Eiweifs-

stoffe der Milch eine biologische Verwandtschaft zu Bluteiweifsstoffen haben. Wenn diese Identität bei der Differenzierung von Milch und Blut derselben Tierart, wie wir in den Tab. 7 gesehen haben, nicht zum Ausdruck kommt, d. h. wenn wir praktisch in der Lage sind, Milch von dem Blute desselben Tieres mit Hilfe der Komplementbindung zu differenzieren, so liegt das einzig und allein an der hohen Spezifität der Komplementbindungsreaktion. Wir wissen ja, dafs es nicht gelingt, in der geschilderten Weise mit der Präzipitationsmethode Blut von Milch derselben Art zu trennen; denn sowohl ein Blutantiserum gibt mit Milch derselben Art eine Fällung, als auch ein Milchantiserum in dem Blute derselben Tierart. Diese höhere Spezifität der Komplementbindungs-Reaktion ist nach Sachs hauptsächlich dadurch bedingt, dafs wir bei der Komplementbindung im Gegensatz zur Präzipitation mit kleineren Mengen des Antiserums zu arbeiten in der Lage sind. Da wir nun wissen, dafs in einem durch organische Flüssigkeiten gewonnenen Serum, z. B. im Laktoserum, ein Komplex von mehreren Antikörpern vorhanden ist, so ist es durchaus einleuchtend, dafs bei einer Verdünnung des Antiserums zuerst diejenigen Antikörper, die in geringster Zahl vorhanden sind, in den Hintergrund treten und schliefslich ganz verschwinden. Stellen wir uns also vor, dafs in einem Kuhlaktoserum z. B. hauptsächlich Kaseinantikörper vorhanden sind, was bei dieser kaseinreichen Milch gar nicht wundernimmt, und nur in geringem Mafse Antikörper gegen die löslichen Eiweifsstoffe, so werden natürlich bei einer gewissen Verdünnung dieses Antiserums die letzteren gar nicht mehr zur Geltung kommen können, während die Kaseinantikörper zu optimaler Wirkung gelangen. Anders ist es natürlich, wenn wir die löslichen Eiweifsstoffe aus der Milch chemisch isolieren und speziell gegen sie gerichtete Antikörper gewinnen. In diesem Sinne sind auch unsere Resultate betreffs der Albumin-Globulin-Stoffe der Milch und des Blutserums aufzufassen. Wir sahen ja schon vorhin (Tab. 7 d und 7 e), dafs sich die Kolostralmilch von der gewöhnlichen Milch dadurch unterscheidet, dafs sie gröfsere Mengen hämatogener Eiweifskörper besitzt. Es kommen daher auch

in dem Kolostrum-Antiserum die Antikörper gegen das lösliche Eiweifs neben den Kaseinantikörpern zur Wirksamkeit.

Versuchsreihe IV.

(Tab. 9, 10, 11 und 12.)

Die Versuchsreihe IV bildet sozusagen die Umkehrung der Versuchsreihe II. Sie bringt zum Ausdruck wie sich die Antisera, gewonnen durch die Injektion der einzelnen Milcheiweifskörper, gegenüber der Milch im ganzen und gegenüber der Milch mehr oder minder verwandter Tierarten verhalten. Wir sehen in Tab. 9, 11 und 12 deutlich zum Ausdruck kommen, dafs auch das Kasein an sich Träger der Arteigenheit und der Verwandtschaftseigenschaft ist. Für die Albuminstoffe ist die Arteigenheit früher schon von Schlossmann und Moro[1]) auf Grund der Präzipitation beansprucht worden.

Tabelle 9.

Mengen der Milch ccm	Hämolyse bei Einwirkung von 0,01 ccm Kuhmilchkasein-Antiserum auf Milch von							
	Kuh		Büffel		Ziege		Esel	
		ohne Antiser.		ohne Antiser.		ohne Antiser.		ohne Antiser.
0,1	0	kompl.	0	kompl.	0	kompl.	0	st. mäfs.
0,05	0	»	0	»	0	»	0	stark
0,01	0	»	0	»	0	»	wenig	kompl.
0,005	0	—	fast 0	—	fast 0	—	mäfsig	—
0,001	0	—	»	—	wenig	—	stark	—
0,0005	Spur	—	Spur	—	mäfsig	—	kompl.	—
0,0001	»	—	—	—	—	—	—	—
0	kompl.	kompl	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.

Wir lernen, dafs dasselbe, wie wir aus Tab. 10 schliefsen können, auch für die löslichen Eiweifsstoffe der Milch gilt.

1) Schlofsmann u. Moro, Zur Kenntnis der Arteigenheit der verschiedenen Eiweifskörper in der Milch. Münch. med. Wochenschr. 1903, Nr. 14.

Tabelle 10.

Mengen der Milch ccm	Hämolyse bei Einwirkung von 0,0333 ccm Kuhmilchalbumin-Antiserum auf Milch von									
	Kuh		Büffel		Ziege		Esel		Frau	
		ohne Antiserum		ohne Antiserum		ohne Antiserum		ohne Antiserum		ohne Antiserum
0,1	0	kompl.	wenig	kompl.	0	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.
0,05	0	»	0	»	0	»	»	»	»	»
0,01	0	»	0	»	0	»	»	»	»	»
0,005	0	—	0	—	0	—	»	—	»	—
0,001	0	—	0	—	wenig	—	»	—	»	—
0,0005	stark	—	0	—	»	—	»	—	»	—
0	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	»	kompl.	»	kompl.

Tabelle 11.

Mengen der Milch ccm	Hämolyse bei Einwirkung von 0,05 ccm Ziegenmilchkasein-Antiserum auf Milch von							
	Kuh		Büffel		Ziege		Esel	
		ohne Antiserum		ohne Antiserum		ohne Antiserum		ohne Antiserum
0,1	0	kompl.	0	kompl.	0	kompl.	0	Spur
0,05	0	»	0	»	0	»	0	stark
0,01	0	»	0	»	0	»	wenig	kompl.
0,005	0	—	0	—	0	—	mäfsig	—
0,001	0	—	wenig	—	0	—	stark	—
0,0005	fast 0	—	mäfsig	—	0	—	»	—
0	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.

Tabelle 12.

Mengen der Milch ccm	Hämolyse bei Einwirkung von 0,05 ccm Frauenmilch-Antiserum auf Milch von					
	Kuh		Esel		Frau	
		ohne Antiserum		ohne Antiserum		ohne Antiserum
0,1	Spur	stark	0	mäfsig bis wenig	0	komplett
0,05	wenig	komplett	mäfsig	fast kpl.	0	»
0,01	stark	»	stark	komplett	0	»
0,005	komplett	—	komplett	—	0	—
0,001	»	—	»	—	0	—
0,0005	»	—	»	—	0	—
0,0001	—	—	—	—	wenig	—
0,00001	—	—	—	—	komplett	—
0	komplett	komplett	komplett	komplett	»	komplett

Versuchsreihe V.

(Tab. 13, 14, 15 und 16.)

In dieser Versuchsreihe kommt zum Ausdruck, wie sich die Antisera der einzelnen Milcheiweifskörper gegenüber den einzelnen Eiweifsstoffen der eigenen und fremder Milch verhalten. In Tab. 13 kommt einwandsfrei zum Ausdruck, dafs sich mit Hilfe eines Kaseinantiserums das Kuhmilchkasein von dem Albumin durchaus differenzieren läfst. Auch mit Hilfe

Tabelle 13.

Mengen d. Eiweifskörperlös. Stammlös. 0,05 g Eiweifs in 3 ccm 1‰ NaOH gelöst ccm	Eingetretene Hämolyse bei Einwirkung von 0,01 ccm Kuhmilchkasein-Antiserum auf folgende Milcheiweifskörper							
	Kuhmilchkasein		Ziegenmilchkasein		Eselsmilchkasein		Kuhmilchalbumin	
		ohne Antiser.		ohne Antiser.		ohne Antiser		ohne Antiser.
0,1	0	kompl.	0	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.
0,05	0	»	0	»	»	»	»	»
0,01	0	»	0	»	»	»	»	»
0,005	0	—	0	—		—	»	—
0,001	0	—	0			—	»	—
0,0005	0		Spur	—		—	»	—
0,0001	mäfsig	—	—		—	—	—	—
0	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.

Tabelle 15.

Mengen der Eiweifskörperlösung. Stammlösung 0,05 g. Eiweifs in 3 ccm 1‰ NaOH gelöst ccm	Eingetretene Hämolyse bei Einwirkung von 0,05 ccm Ziegenmilchkasein-Antiserum auf folgende Milcheiweifskörper									
	Kuhmilchkasein		Ziegenmilchkasein		Eselsmilchkasein		Frauenmilchkasein		Kuhmilchalbumin	
		ohne Antiserum		ohne Antiserum		ohne Antiserum		ohne Antiserum		ohne Antiserum
0,1	Spur	kompl.	0	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.
0,05	»	»	0	»	»	»	»	»	»	»
0,01	»	»	fast 0	»	»	»	»	»	»	»
0,005	mäfsig	—	Spur	—	»	—	»	—	»	—
0,001	kompl.	—	kompl.	—	»	—	»	—	»	—
0,0005	—	—	»	—	—	—	—	—	—	—
0,0001	—	—	»	—	—	—	—	—	—	—
0	kompl.	kompl.	»	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	—	kompl.	kompl.

Tabelle 16.

Mengen der Eiweifskörperlösung. Stammlösung 0,05 g. Eiweifs in 3 ccm 1‰ NaOH gelöst ccm	Eingetretene Hämolyse bei Einwirkung von 0,05 ccm Frauenmilchkasein-Antiserum auf folgende Milcheiweifskörper									
	Kuhmilchkasein		Eselsmilchkasein		Frauenmilchkasein		Eselsmilchalbumin		Frauenmilchalbumin	
		ohne Antiserum		ohne Antiserum		ohne Antiserum		ohne Antiserum		ohne Antiserum
0,1	stark	kompl.	stark	fast k.	0	kompl.	kompl.	kompl.	Spur	kompl.
0,05	»	»	fast k.	kompl.	0	»	»	»	»	»
0,01	kompl.	»	kompl.	»	0	»	»	»	»	»
0,005	»	—	»	—	0	»	»	—	wenig	—
0,001	»	—	»	—	0	»	»	—	»	—
0,0005	»	—	»	—	0	»	»	—	kompl.	—
0,0001	—	—	—	—	stark	—	—	—	—	—
0,00001	—	—	—	—	kompl.	—	—	—	—	—
0	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	»	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.

Tabelle 14.

Mengen d. Eiweifskörperlös. Stammlösung 0,05 g Eiw. i. 3 ccm 1‰ NaOH gelöst ccm	Eingetretene Hämolyse bei Einwirkung von 0,0333 ccm Kuhmilchalbumin Antiserum auf folgende Eiweifskörper							
	Kuhmilchkasein		Kuhmilchalbumin		Eselmilchalbumin		Frauenmilchalbum.	
		ohne Antiser.		ohne Antiser.		ohne Antiser.		ohne Antiser.
0,1	0	kompl	0	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.
0,05	Spur	›	0	›	›	›	›	›
0,01	mäfsig	›	0	›	›	›	›	›
0,005	stark	›	0	—	›	—	›	—
0,001	kompl.	›	0	—	›	—	›	—
0,0005	›	›	0	—	›	—	›	—
0	›	›	kompl.	kompl	›	kompl	›	kompl.

eines Albumin-Antiserums läfst sich gemäfs Tab. 14 die Differenzierungsmöglichkeit zwischen den beiden Eiweifsstoffen einer organischen Flüssigkeit, der Milch ausdrücken. In Tab. 14 erscheint diese Differenzierung nicht als eine absolute in sofern, als eine konzentriertere Kaseinlösung eine gewisse Ablenkung mit dem Antiserum des Albumins gibt. Wenn wir aber den kolossalen Ausschlag unserer Antisera bei der Komplementbindung betrachten, so müssen wir doch hier in erster Linie daran denken, dafs es sich um eine ungenügende Reinheit unserer Eiweifspräparate handelt. Wenn wir die Tabelle anschauen, so wird es uns sofort klar, dafs es sich hier nur um eine spurweise Verunreinigung eines Präparates handeln kann, die sich durchaus aus einer gewissen Unvollkommenheit unserer chemischen Methodik erklären läfst.

Versuchsreihe VI.

(Tab. 17 und 18.)

Wir haben vorher schon erfahren, dafs die Kolostralmilch sich biologisch von der gewöhnlichen Milch unterscheidet. Langer[1]) hat schon früher gefunden, dafs der Kolostralmilch stärkere antigene Eigenschaften bei der Präzipitin-Reaktion zukamen als der späteren Milch. Er führt dies auf den gröfseren Eiweifsgehalt der Frühmilch und namentlich auf ihren Gehalt

1) J. Langer, Zur Resorption des Erstkolostrums. Verhandl. d. d. Ges. f. Kinderheilkunde 1907.

Mengen der Milch ccm	Eingetretene Hämolyse bei Einwirkung von 0,025 ccm Antiserum, gewonnen durch Injektionen von Kuh-Colostralmilch vom 1. Tage, auf die Milch von													
	Kuh-Kolost. v. 1. Tg.		Kuh-Kolostr. v. 5. T. (Molke)		Kuh		Büffel		Ziege		Esel		Frau	
		ohne Antiser.		ohne Antiser.		ohne Antiser.		ohne Antiser.		ohne Antiser.		ohne Antiser.		ohne Antiser.
0,1	0	kompl.	0	kompl.	0	kompl.	0	kompl.	0	kompl.	0	0	0	kompl.
0,05	0	»	0	»	0	»	0	»	0	»	0	kompl.	Spur	»
0,01	0	»	0	»	0	»	0	»	0	»	kompl.	»	stark	»
0,005	0	—	fast 0	—	0	—	0	—	mäfsig	—	»	—	kompl.	—
0,001	0	—	» 0	—	fast 0	—	Spur	—	stark	—	»	—	»	—
0,0005	0	—	» 0	—	fast 0	—	wenig	—	kompl.	—	»	—	»	—
0	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	»	kompl.	»	kompl.	»	kompl.

Tabelle 18.

Mengen der Milch ccm	Eingetretene Hämolyse bei Einwirkung von 0,02 ccm Antiserum, gewonnen durch Injektionen von Kuh-Colostralmilch vom 5. Tage auf die Milch von											
	Kuh-Kolostr. v. 1. T.		Kuh-Kolostr. v. 5. T. (Molke)		Kuh		Büffel		Ziege		Frau	
		ohne Antiser.		ohne Antiser.		ohne Antiser.		ohne Antiser.		ohne Antiser.		ohne Antiser.
0,1	0	mäfsig	0	kompl.	0	kompl.	0	kompl.	0	kompl.	stark	kompl.
0,05	—	—	—	—	—	—	—	—	0	»	fast k.	»
0,01	0	kompl.	0	kompl.	0	kompl.	0	kompl.	0	»	kompl.	»
0,005	—	—	—	—	—	—	—	—	0	—	»	—
0,001	0	kompl.	fast 0	kompl.	0	kompl.	0	kompl.	0	—	»	—
0,0005	0	—	—	—	—	—	—	—	0	—	»	—
0,0001	0	—	mäfsig	—	0	—	Spur	—	—	—	—	—
0,00005	0	—	»	—	0	—	»	—	—	—	—	—
0,00001	0	—	stark	—	0	—	mäfsig	—	—	—	—	—
0	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.

an Laktalbumin und Globulin zurück. Auch in unseren Tabellen kommt der starke Antikörpergehalt der Kolostrum-Antisera zum Ausdruck, so dafs wir meistens mit den minimalsten Mengen, die wir bei der Austitrierung der Laktosera benutzt haben, nicht die Grenze der Bindungsfähigkeit erreichten. Dementsprechend kommen auch die Verwandtschaftsreaktionen mit Hilfe des Kolostrum-Antiserums in höherem Mafse zur Wirkung als mit Hilfe des Laktoserums, in sofern nämlich, als z. B. die Frauenmilch noch mit dem Kuhkolostrum-Antiserum eine schwache Reaktion eingeht.

Versuchsreihe VII.

(Tab. 19 und 20 auf S. 25.)

Auch die Differenzierung der einzelnen Milcheiweifskörper gelingt mit Hilfe des Kolostral-Antiserums in ähnlicher Weise wie mit dem gewöhnlichen Laktoserum. Nur sehen wir in Tab. 20 einen besseren Ausschlag mit den löslichen Eiweisstoffen, gemäfs dem gröfseren Gehalt des Kolostrums an diesen.

Versuchsreihe VIII.

(Tab. 21, 22, 23a, 23b, 23c, 23d und 23e auf S. 26/27.)

Für die praktische Anwendung der Milchdifferenzierungsmethoden war es von Wichtigkeit, ob auch gekochte Milch einerseits mit einem Laktoserum eine Komplementbindung gibt, und ob sich mit Hilfe gekochter Milch ein Laktoserum herstellen läfst. Wir sehen in Tab. 21, dafs sich durch Injektion von gekochter Milch ebensogut ein Laktoserum erzeugen läfst, wie mit roher Milch, und dafs ein solches ebensogut mit gekochter wie mit roher Milch in Reaktion tritt. Auch mit den einzelnen Eiweifskörpern (s. Tab. 22) bindet sich ein Antiserum gegen gekochte Milch, ebenso wie ein gewöhnliches Laktoserum. Aus Tab. 23 geht hervor, dafs sich auch gekochte Milch mit Hilfe von Antiserum, gewonnen durch die Injektion von Milch oder von Milcheiweifskörpern, nachweisen läfst. Nur in Tab. 23c scheint sich zu ergeben, dafs die löslichen Eiweifsstoffe unter der Einwirkung des Kochens leiden, was natürlich bei dem Nachweis der

Mengen der Eiweifskörperlös. Stammlösung 0,05 g Eiweifs in 3 ccm 1‰ NaOH gelöst ccm	Eingetretene Hämolyse bei Einwirkung von 0,025 ccm Antiserum, gewonnen durch Injektionen von Kuh-Kolostralmilch vom 1. Tag, auf folgende Milcheiweifskörper									
	Kuhmilchkasein		Ziegenmilchkasein		Eselsmilchkasein		Frauenmilchkasein		Kuhmilchalbumin	
		ohne Antiserum		ohne Antiserum		ohne Antiserum		ohne Antiserum		ohne Antiserum
0,1	0	kompl.	0	kompl.	mäfsig	kompl.	Spur	kompl.	Spur	kompl.
0,05	0	»	0	»	stark	»	»	»	wenig	»
0,01	0	»	0	»	kompl.	»	wenig	»	stark	»
0,005	fast 0	—	0	—	»	—	stark	—	kompl.	—
0,001	fast 0 — wenig	—	kompl.	—	»	—	kompl.	—	»	—
0,0005	do.	—	»	—	»	—	»	—	»	—
0	kompl.	kompl.	»	kompl.	»	kompl.	»	kompl.	»	kompl.

Tabelle 20.

Mengen der Eiweifskörperlösung. Stammlösung 0,05 g Eiweifs auf 2 ccm 1% NaOH gelöst	Eingetretene Hämolyse bei Einwirkung von 0,02 ccm Antiserum, gewonnen durch Injektionen von Kuh Kolostralmilch vom 5. Tag, auf folgende Milcheiweifskörper													
	Kuhmilchkasein		Ziegenmilchkasein		Eselsmilchkasein		Frauenmilchkasein		Kuhmilchalbumin		Eselsmilchalbumin		Frauenmilchalbum.	
		ohne Antiser.		ohne Antiser.		ohne Antiser		ohne Antiser.		ohne Antiser		ohne Antiser.		ohne Antiser.
ccm														
0,1	0	kompl.	0	kompl	stark	kompl.	Spur	kompl.	0	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.
0,05	0	»	0	»	fast k.	»	wenig	»	fast 0	»	»	»	»	»
0,025	—	—	—	—	kompl.	»	mäfsig	»	wenig	—	—	—	—	—
0,01	0	kompl.	0	kompl.	»	—	stark m.	—	stark	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.
0,005	0	—	0	—	»	—	fast k.	—	kompl.	—	»	—	»	—
0,0025	—	—	—	—	»	—	kompl.	—	—	—	—	—	—	—
0,001	0	—	wenig	—	—	—	—	—	kompl.	—	kompl.	—	kompl.	—
0,0005	0	—	mäfsig	—	—	—	—	—	»	—	»	—	»	—
0	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	»	kompl.	»	kompl.	»	kompl.

Tabelle 21.

Mengen der Milch ccm	Eingetretene Hämolyse bei Einwirkung von 0,02 ccm Antiserum, gewonnen durch Injektionen von gekochter Kuhmilch (im Reagenzglase einmal aufgekocht), auf die Milch von													
	Kuh-Kolost. v. 1. T.		Kuh-Kolost. v 4. T. (Molke)		Kuh (roh)		Kuh (einmal aufgekocht		Büffel		Ziege		Frau	
		ohne Antiser.		ohne Antiser.		ohne Antiser.		ohne Antiser.		ohne Antiser		ohne Antiser.		ohne Antiser.
0,1	0	stark	0	kompl.	0	kompl.	0	kompl.	0	kompl.	0	kompl.	kompl.	kompl.
0,05	0	kompl.	—	—	—	—	—	—	—	—	0	»	»	»
0,01	0	»	0	kompl.	0	kompl.	0	kompl.	0	kompl.	0	»	»	»
0,005	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0	—	»	—
0,001	0	—	0	kompl.	0	kompl.	0	kompl.	fast 0	kompl.	0	—	»	
0,0005	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0	—	»	—
0,0001	0	—	0	—	0	—	0	—	fast 0	—	—	—	—	—
0,00005	0	—	0	—	0	—	0	—	fast 0	—	—	—	—	—
0,00001	0	—	fast 0	—	0	—	fast 0		Spur	—	—	—	—	—
0	kompl.	kompl.	kompl	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl	kompl.	kompl.

Tabelle 22.

Mengen der Eiweifskörperlösung. Stammlösung 0,05 g. Eiweifs in 3 ccm 1‰ NaOH gelöst ccm	Eingetretene Hämolyse bei Einwirkung von 0,02 ccm Antiserum, gewonnen durch Injektionen von gekochter Kuhmilch (im Reagenzglase einmal aufgekocht), auf folgende Milcheiweifskörper											
	Kuhmilchkasein		Ziegenmilchkasein		Eselsmilchkasein		Frauenmilchkasein		Kuhmilchalbumin		Eselsmilchalbumin	
		ohne Antiser.		ohne Antiser.		ohne Antiser		ohne Antiser.		ohne Antiser.		ohne Antiser.
0,1	0	kompl	0	kompl.	kompl.	kompl.	0	mäfsig	0	kompl.	kompl.	kompl.
0,05	0	»	0	»	»	»	0	fast k.	0	»	»	»
0,025	—	—	—	—	»	»	0	kompl.	—	—	»	»
0,01	0	kompl.	0	kompl.	»	—	Spur	—	fast 0	kompl.	»	—
0,005	fast 0	—	fast 0	—	»	—	kompl.	—	mäfs wen	—	»	—
0,0025	—	—	0	—	»	—	»	—	—	—	»	—
0,001	fast 0	—	Spur	—	—	—	—	—	mäfs wen	—	—	—

Tabelle 23 a.

Mengen der Milch ccm	Eingetretene Hämolyse bei Einwirkung von 0,025 ccm Kuhmilch-Antiserum auf die Milch von							
	Kuh (einm. i. Reag.-glase aufgek.)		Büffel (einm. i. Reag.-glase aufgek.)		Ziege (einm. i. Reag.-glase aufgek.)		Esel (einm. i. Reag.-glase aufgek.)	
		ohne Antiser.		ohne Antiser		ohne Antiser.		ohne Antiser.
0,1	0	kompl.	0	kompl.	0	kompl.	kompl.	kompl.
0,05	0	»	0	»	0	»	»	»
0,01	0	»	0	»	Spur	»	»	»
0,005	0	—	Spur	—	»	—	»	—
0,001	Spur	—	»	—	»	—	»	—
0,0005	»	—	»	—	wenig	—	»	—
0	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	»	kompl.

Tabelle 23 b.

Mengen der Milch ccm	Eingetretene Hämolyse bei Einwirkung von 0,05 ccm Kuhmilchkasein-Antiserum auf die Milch von			
	Kuh (einm. i. Reag.-glas aufgek.)		Ziege (einm. i. Reag.-glas aufgek.)	
		ohne Antiser.		ohne Antiser.
0,1	0	kompl.	0	kompl.
0,05	0	»	0	»
0,01	0	»	0	»
0,005	0	—	fast 0	—
0,001	0	—	mäfsig	—
0,0005	0	—	fast k.	—
0	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.

Tabelle 23 c.

Eingetretene Hämolyse bei Einwirkung von 0,0333 ccm Kuhmilchalbumin Antiserum auf die Milch von			
Kuh (einm. i. Reag.-glase aufgek.)		Ziege (einm. i. Reag.-glase aufgek.)	
	ohne Antiser.		ohne Antiser.
wenig	kompl.	wenig	kompl.
»	»	»	»
»	»	»	»
Spur	—	»	—
»	—	Spur	—
»	—	»	—
kompl.	kompl.	kompl.	kompl.

Tabelle 23 d.

Mengen der Milch ccm	Eingetretene Hämolyse bei Einwirkung von 0,025 ccm Antiserum, gewonnen durch Injektionen von Kuh-Kolostralmilch vom 1 Tage auf die Milch von			
	Kuh (einmal im Reagenzglase aufgekocht)		Ziege (einm. i. Reagenzglase aufgekocht	
		ohne Antiserum		ohne Antiserum
0,1	0	komplett	0	fast k.
0,05	0	»	0	komplett
0,01	0	»	fast 0	»
0,005	0	—	Spur	—
0,001	fast 0	—	fast k.	—
0,0005	»	—	»	—
0,0001	—	—	—	—
0,00005	—	—	—	—
0,00001	—	—	—	—
0	komplett	komplett	komplett	komplett

Tabelle 23 e.

Eingetretene Hämolyse bei Einwirkung von 0,02 ccm Antiserum, gewonnen durch Injektionen von Kuh-Kolostralmilch v. 1 Tag, auf die Kuhmilch (einmal im Reagenzglase aufgek.) ohne Antiser.	
0	komplett
—	—
0	komplett
—	—
0	komplett
—	—
0	—
0	—
0	—
komplett	komplett

Milchverfälschung oder selbst bei dem Antigennachweis des Kolostrums nicht in die Wagschale fällt, da ja die löslichen Eiweifsstoffe in der Milch biologisch gegen das Kasein in den Hintergrund treten. Wir haben schon erwähnt, dafs einige Forscher anfangs fanden, dafs ein Laktoserum mit gekochter Milch keine Präzipitation ergab. Dieses Resultat ist von P. Th. Müller dahin gedeutet worden, dafs durch das Kochen der Kalksalzgehalt der betr. Milch verringert worden sei. So fiel es auch auf, dafs besonders beim Kochen kalkarmer Milch das Ausfällungsvermögen verloren ging. Müller hat erwiesen, dafs zur Milchpräzipitation die Anwesenheit von Kalksalzen durchaus notwendig ist, und zwar vermitteln die Kalksalze nicht etwa die Bindung des Milchantigens an seine Antikörper; diese findet auch im kalkarmen Medium statt. Nur das Phänomen der Ausfällung bleibt in demselben fort. Für die Komplementbindung scheint nach unseren Untersuchungen der Kalksalzgehalt des Mediums keine Rolle zu spielen.

Schlufssätze.

1. Die Komplementbindungsreaktion ist der Präzipitation bei der biologischen Milchdifferenzierung überlegen.
2. Auch mit dieser Methode kommen die verwandtschaftlichen Beziehungen der Milch verschiedener Tierarten durchaus zum Ausdruck.
3. Die Eiweifskörper einer Milch, Kasein einerseits und die Albumin-Globulin-Substanzen andrerseits lassen sich mit Hilfe der Komplementablenkung differenzieren.
4. Jeder der beiden Eiweifsstoffe hat seinen eigenen Art-Charakter.
5. Vermöge der hohen Spezifität der Komplementbindung läfst sich mit dieser Methode praktisch die Milch von dem Serum derselben Tierart differenzieren.
6. Trotzdem besitzt die Milch gewisse Eiweifsstoffe, die biologisch mit solchen des Blutes derselben Tierart identisch sind.

7. Die Kolostralmilch besitzt solche Eiweifsstoffe hämatogenen Ursprungs in weit höherem Mafse als die gewöhnliche Milch.
8. Mit Hilfe eines Laktoserums läfst sich mit der Komplementbindungsmethode auch gekochte Milch nachweisen, und umgekehrt kann man mit gekochter Milch ein Antiserum herstellen, das mit gekochter und Rohmilch eine Bindung gibt. Die Komplementbindung der Milch-Antisera und ihrer zugehörigen Antigene scheint von dem Kalkgehalt des Mediums im Gegensatz zur Präzipitation unabhängig zu sein.

Zum Schlusse erlaube ich mir, Herrn Prof. Dr. Schlofsmann für die gütige Überweisung des nötigen Materials und Überlassung des Arbeitsplatzes, sowie Herrn Assistenzarzt Dr. Bauer für seine tatkräftige Unterstützung und Mitarbeit bei Ausführung der Arbeit meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

Lebenslauf.

Ich, Friedrich Kollmeyer, wurde am 11. Mai 1885 als Sohn des Hofbesitzers Wilhelm Kollmeyer zu Erpen-Timmern bei Dissen geboren. Meine erste Schulbildung genofs ich an den Volksschulen zu Rothenfelde und Erpen, sowie an der höheren Bürgerschule zu Dissen. Vom Jahre 1900 ab besuchte ich das Realgymnasium zu Quakenbrück, woselbst ich Ostern 1905 das Reifezeugnis erlangte, um mich alsdann an der Kgl. Tierärztlichen Hochschule zu Hannover dem tierärztlichen Studium zu widmen. Hierselbst bestand ich im Herbst 1907 die naturwissenschaftliche Prüfung. Nach einem einsemestrigen Studium an der Kgl. Tierärztlichen Hochschule zu Stuttgart kehrte ich wieder nach Hannover zurück und erlangte hier im Sommersemester 1909 die Approbation als Tierarzt. Seit Mitte August bin ich zwecks Anfertigung meiner Dissertation im Laboratorium der Klinik für Kinderheilkunde an den allgemeinen städtischen Krankenanstalten zu Düsseldorf beschäftigt.